



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

UTILIZAÇÃO DE SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE  
ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus* POEY, 1860).

SCHEILA DUTRA

FLORIANÓPOLIS, SC

2011/2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

SCHEILA DUTRA

UTILIZAÇÃO DE SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE  
ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus* POEY, 1860).

Relatório do Estágio Supervisionado II  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Engenharia de Aquicultura como parte  
dos requisitos para obter o título de  
Engenheira em Aquicultura.

Orientador: Vinicius R. Cerqueira, Dr.

FLORIANÓPOLIS, SC

2011/2

## FICHA CATALOGRÁFICA

DUTRA, SCHEILA

**TÍTULO: UTILIZAÇÃO DE SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus* POEY, 1860).**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO II.

CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

FLORIANÓPOLIS /SC - BRASIL

NO. 43

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela luz que ilumina meus caminhos para atingir meus objetivos.

Aos meus pais Maria Eliete Dutra e Nilson Dutra e ao meu irmão Diego Dutra pelo amor e carinho aos quais me orgulho muito. Vocês são meus maiores exemplos! Palavras não descrevem o quanto são importantes. Obrigada por tudo! Amo vocês!

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pela oportunidade de ensino gratuito e de qualidade.

Ao professor Vinícius Ronzani Cerqueira por ter aceitado ser meu orientador e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo do estágio.

A toda equipe do laboratório LAPMAR, Andressa, Fábio, Felipe, Gabriel, Gabriel Bail, Guto, Israel, João, Lucas, Luiz Eduardo, Luiz Paulo, Marcela, Ricardo, Salete, Tiago, Vaico, Wanessa pelas infinitas risadas e pela contribuição na minha formação profissional. Em especial a Cristina pela prestatividade, paciência, ensinamentos e amizade durante todo o estágio.

Aos amigos e colegas conquistados durante a graduação. Em especial Beatriz e Virgínia agradeço pelas horas e horas de parceria na “Maria” e principalmente pela amizade e companheirismo durante todos esses anos.

Ao grupo do setor de microbiologia do Laboratório de Camarões Marinhos por cederam os sais de ácidos orgânicos e por auxiliarem toda a realização das análises microbiológicas.

Ao Bruno pelo apoio, incentivo, ensinamentos, amizade e paciência durante a realização deste trabalho.

Ao Zé Luiz, meu amor, amigo, noivo, “marido”, companheiro, confidente... agradeço pelo apoio incondicional, pela paciência, pelo cuidado, pelos momentos de alegrias e compreensão nos momentos difíceis, enfim, por ter entrado na minha vida!

*“Toda vitória é alcançada com luta e sofrimento. Porém, a luta passa.  
O sofrimento é apenas temporário, mas a vitória que se consegue é  
para sempre!”*

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 01 - Mapa com a distribuição geográfica do robalo-peva (*C. parallelus*), indicado pelas cores vermelha com maior incidência e amarela com menor incidência. Fonte: AQUAMAPS .....11
- Figura 02 - Fotografia do robalo-peva (*C. parallelus*). Fonte: Cristina Carvalho .....12
- Figura 03 - Mecanismo da atividade bacteriostática de ácido orgânico (ácido butírico). Os ácidos passam pela membrana celular em sua forma não dissociada, dissociando no citoplasma. Como consequência, as células têm de gastar energia para exportar o excesso de prótons. Fonte: DEFOIRDT et al., 2009 .....14
- Figura 04 - Laboratório de Piscicultura Marinha – LAPMAR - I. Fonte: Google maps.....16
- Figura 05 - Figura 05. Produção de microalgas em garrações de 5, 20 L e tanques de fibra de 500 L. Fonte: Scheila Dutra, 2011.....17
- Figura 06 - Figura 06. Espécies de rotíferos cultivados no laboratório de Piscicultura Marinha I (*Brachionus plicatilis* e *Brachionus rotundiformis*).  
Fonte:[http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/korea/korean\\_aquaculture/zooplanktonic.htm](http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/korea/korean_aquaculture/zooplanktonic.htm) .....18
- Figura 07 - Náuplio de *Artemia*. Fonte:  
<http://www.crystalred.eu/produto/2316/nauplio-de-artemia-vivo-enriquecido/> .....19
- Figura 08 - Juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Fonte: Scheila Dutra, 2011 .....20
- Figura 09 - Tanques povoados com juvenis de robalo-peva. Fonte: Scheila Dutra, 2011.....26
- Figura 10 - Ração INVE com adição de óleo de bacalhau e sais de ácido orgânico. Fonte: Scheila Dutra, 2011.....27
- Figura 11 - Biometria de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus*. Fonte: Scheila Dutra, 2011.....28
- Figura 12 - Meio de cultura TCBS com unidades formadoras de colônia. Fonte: Scheila Dutra, 2011.....29

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição centesimal da dieta comercial (INVE) utilizada no experimento .....	27
<b>Tabela 2.</b> Médias seguidas do desvio padrão dos parâmetros zootécnicos avaliados referentes à inclusão de 3% de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio, citrato de sódio e tratamento controle, em dietas para juvenis de robalo-peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) após 15 dias .....	30
<b>Tabela 3.</b> Médias seguidas do desvio padrão dos parâmetros zootécnicos avaliados referentes à inclusão de 3% de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio, citrato de sódio e tratamento controle, em dietas para juvenis de robalo-peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) após 30 dias .....	30
<b>Tabela 4.</b> Concentrações microbiológicas de amostras do trato intestinal de juvenis de robalo-peva ( <i>Centropomus parallelus</i> ) suplementados via dieta com 3% de sais de ácidos orgânicos, citrato de sódio, acetato de sódio e tratamento controle após 30 dias de experimento .....	32

## RESUMO

Este trabalho tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas durante o período de estágio supervisionado II, sendo este, requisito parcial para obtenção do título de Engenharia de Aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina. O estágio foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR-I) durante junho de 2010 a novembro de 2011. Nesse período foi possível acompanhar as atividades desenvolvidas no laboratório como o cultivo de microalgas, rotíferos, *Artemia* e reprodução de robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Além das atividades até então descritas, também foi possível realizar, durante o estágio, um experimento que consistiu na avaliação da utilização de 3% de sais de ácidos orgânicos em dietas para juvenis de robalo-peva durante 30 dias. O presente trabalho teve por objetivo mensurar índices zootécnicos (ganho de peso, sobrevivência, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, consumo diário de ração e fator de condição) dos juvenis de robalo-peva suplementados, via dieta, com sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio e avaliar a microbiota intestinal dos juvenis utilizando meios de cultura seletivos TCBS (Meio de cultura específico para vibrionáceas) e Marine Ágar (Meio de cultura para bactérias heterotróficas totais marinhas). Foram utilizados 3.000 juvenis de robalo-peva, com peso médio inicial de  $0,57 \pm 0,10$  g e comprimento médio de  $3,65 \pm 0,19$  cm. Após a biometria inicial, estes foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques cilíndricos de 50 L na proporção de 5 juvenis/ L por tanque, com três tratamentos acetato de sódio, citrato de sódio e controle com quatro réplicas para cada, aclimatados durante uma semana. Após as análises foi possível avaliar a inclusão de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio, em dietas para juvenis de robalo-peva (*C. parallelus*). Apesar dos índices zootécnicos (ganho de peso, sobrevivência, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e fator de condição) não apresentarem diferença estatística, foi possível obter diferenças significativas no consumo diário de ração e na microbiota existente dentro do trato intestinal. As diversas atividades desenvolvidas durante o estágio possibilitaram o uso na prática do conhecimento teórico adquirido em sala de aula, assim como, o convívio com profissionais da área de produção e pesquisadores, permitiu uma visão mais abrangente da realidade que envolve o engenheiro de aquicultura.

**Palavra-chave:** estágio, atividades, *Centropomus parallelus*, juvenis, dieta, ácido orgânico, microbiota.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	10
1.1 ROBALO-PEVA ( <i>Centropomus parallelus</i> ) .....	11
1.2 ADITIVOS ALIMENTARES .....	13
2. DESCRIÇÃO DO LABORATÓRIO .....	16
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS .....	17
3.1 CULTIVO DE MICROALGAS .....	17
3.2 CULTIVO DE ROTÍFEROS.....	17
3.3 CULTIVO DE ARTEMIA .....	18
3.4 LARVICULTURA DE ROBALO-PEVA .....	19
4. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO CIENTÍFICO .....	21
UTILIZAÇÃO DE SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE ROBALO-PEVA ( <i>Centropomus parallelus</i> POEY, 1860).....	22
1. INTRODUÇÃO .....	22
2. OBJETIVOS .....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
4. RESULTADOS.....	30
5. DISCUSSÕES.....	33
6. CONCLUSÃO ARTIGO CIENTÍFICO .....	36
7. CONCLUSÃO GERAL.....	37
8. REFERÊNCIAS GERAL.....	38
9. REFERÊNCIAS ARTIGO CIENTÍFICO .....	41

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura mundial aumentou substancialmente nas últimas décadas, de menos 1 milhão de toneladas/ano em 1950 para 52,5 milhões de toneladas/ano em 2008. Ao contrário do extrativismo, que mantém sua produtividade estagnada desde meados de 1980, o setor aquícola obteve uma taxa de crescimento de 8,3% em todo mundo (ou 6,5%, excluindo a China), entre 1970 e 2008 (FAO, 2010).

O crescimento da aquicultura brasileira foi exponencialmente igual à mundial, tendo início em meados da década de 70, com uma produção de pescado menor que 0,5 toneladas e em 2008, foi produzido 415.649 toneladas ocupando assim a 16ª posição no ranking mundial. Na América do Sul, apenas o Chile produziu mais que o Brasil, chegando cerca de 870.845 toneladas (MPA, 2011).

Com todo o crescimento observado na aquicultura, a piscicultura marinha também obteve ótimos resultados no mundo, crescendo em torno de 12,5% ao ano no período de 1990-2000 (FAO; State, 2008). Contudo, no Brasil, ainda não há registros oficiais de produção de peixes marinhos em escala comerciais (OSTRENSKY & BOEGER, 2008). A piscicultura brasileira ainda está em fase de intensificação de pesquisas e desenvolvimento de técnicas para criação, pois a atividade ainda é incipiente (DAVID, 2002). As principais dificuldades para o desenvolvimento em escala comercial são a disponibilidade de formas jovens, além da carência de estudos na área de alimentação de peixes marinhos e a demora no apoio do governo e da iniciativa privada (SANCHES et al., 2008).

As espécies mais estudadas no Brasil que se destacam pelo seu potencial de cultivo são: linguado (*Paralichthys orbignyanus*), garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*), badejo (*Mycteroperca microlepis*), vermelhos (*Lutjanus synagris* e *Lutjanus analis*), pampas (*Trachinotus carolinus*, *T. goodei*), bijupirá (*Rachycentron canadum*), tainhas (*Mugil* sp) e os robalos (*Centropomus parallelus* e *C. undecimalis*), (SANCHES et al., 2008).

Em 1990, foi iniciado no Brasil um dos primeiros programas de pesquisa para o desenvolvimento da piscicultura marinha com as espécies de robalo *C.*

*parallelus* e *C. undecimalis* (CERQUEIRA & TSUZUKI, 2009). Os robalos do gênero *Centropomus* Lacépède (1802) possuem alto valor econômico com grande potencial para aquicultura, destacam-se pela qualidade refinada de sua carne, suporta bem condições de confinamento e aceita com facilidade dieta artificial (CERQUEIRA, 2002).

Segundo Rivas (1986) foram descritas 30 espécies de robalo, mas foram aceitas como válidas somente 12. As espécies são: *C. medius*, *C. nigrescens*, *C. viridis*, *C. unionensis*, *C. armatus*, *C. robalito* no Pacífico e *C. mexicanus*, *C. ensiferus*, *C. poeyi*, *C. parallelus*, *C. undecimalis* e *C. pectinatus* no Atlântico. No Brasil podem ser encontradas quatro espécies: *C. ensiferus*, *C. pectinatus*, *C. undecimalis* e *C. parallelus*, sendo que as duas últimas são predominantes (FIGUEIREDO & MENEZES, 1985).

### 1.1 ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus*)

A espécie *C. parallelus* pertence à família Centropomidae, apresenta uma distribuição tropical e subtropical, ocupando as águas litorâneas ocidentais do Oceano Atlântico, desde o sul da Flórida, nos Estados Unidos até o sul do Brasil em Santa Catarina (FIGUEIREDO & MENEZES, 2000) (Figura 01). São peixes marinhos diádromos e eurihalinos que podem ser encontrados nas zonas costeiras, baías, estuários e lagoas salobras, ambientes de água doce e, ocasionalmente, em lagoas hipersalinas (CERVIGÓN et al., 1992).

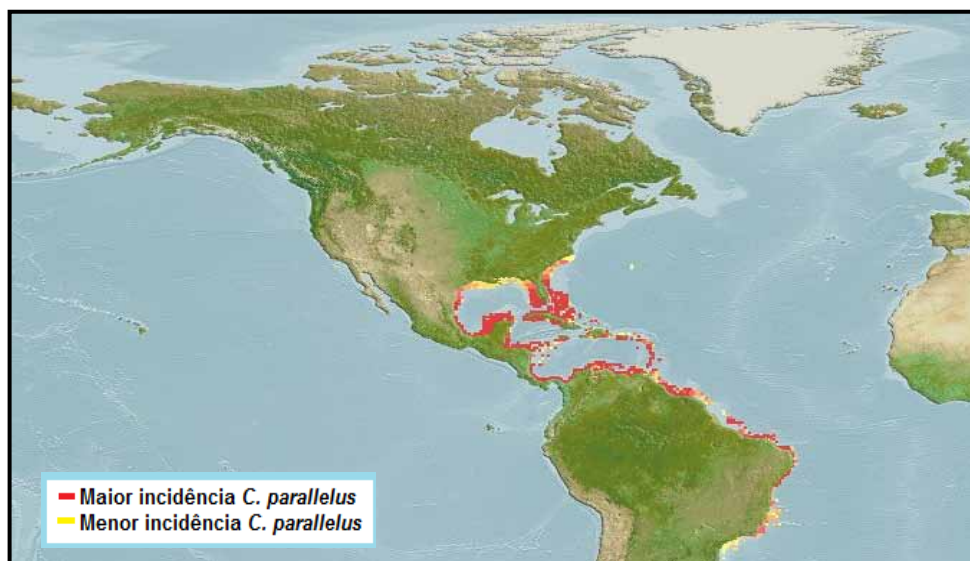


Figura 01. Mapa com a distribuição geográfica do robalo-peva (*C. parallelus*), indicado pelas cores vermelha com maior incidência e amarela com menor incidência. Fonte: AQUAMAPS.

Os robalos possuem corpo alongado, comprido, geralmente com o perfil dorsal curvo-acentuado, com coloração cinza prateada (Figura 02). A espécie *C. parallelus* (robalo-peva) possui o corpo mais alto, com a linha lateral e a parte dorsal mais claro do que *C. undecimalis* (robalo-flecha) (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980 apud CERQUEIRA, 2010). O robalo-peva pode atingir dimensões de 75 cm de comprimento total e peso em torno de 4 kg, sendo que a temperatura ideal para o crescimento varia entre 25°C e 30°C (CERQUEIRA & TSUZUKI, 2009).



Figura 02. Fotografia do robalo-peva (*C. parallelus*). Fonte: Cristina Carvalho.

Os robalos são peixes carnívoros considerados predadores visuais, como a maioria dos peixes carnívoros, pois usam a visão para localização das presas, otimizando os gastos energéticos com a busca de alimento (Tonini et al., 2007). A alimentação natural consisti, basicamente, de peixes e crustáceos (principalmente camarões) de preferência pelágicos, mas podem preda outros organismos (CERQUEIRA, 2004). As espécies carnívoras enfrentam problemas relacionados com o alto índice de canibalismo favorecido pela diferença de tamanho entre os animais e principalmente aos elevados custos de uma dieta altamente protéica (LUZ et al., 2001).

Uma das etapas mais críticas na produção de robalo e de outras espécies de peixes marinhos é a larvicultura. Nesse período ocorre grande mortalidade limitando o cultivo em escala comercial. As fases mais críticas da larvicultura são na primeira semana quando as larvas iniciam a alimentação exógena, muitas não conseguem se alimentar e morrem e na fase do desmame, etapa onde ocorre a substituição do alimento vivo por alimento inerte (CERQUEIRA; MACCHIAVELLO;

BRUGGER, 1995; ROCHA et al., 2008). Outra importante perda no cultivo intensivo de peixes marinhos é devida as infecções bacterianas. Estas são consideradas problemas secundários relacionados ao estresse como variação de temperatura, manejo, qualidade de água, parasitas, tratamento quimioterápico, entre outros (AUSTIN & AUSTIN, 2007).

## 1.2 ADITIVOS ALIMENTARES

Na aquicultura os antibióticos têm sido tradicionalmente utilizados como tratamentos profiláticos (CABELLO, 2006). O uso freqüente de antibióticos contra bacterioses causou a seleção de cepas resistentes a vários antibióticos, (DEFOIRDT et al., 2007). Como consequência, o uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal foi proibido na Europa desde 2006 (DEFOIRDT et al., 2009). Por isso, há uma grande necessidade de buscar alternativas que ajudem a manter a saúde dos animais.

Os primeiros estudos que mostraram que os ácidos orgânicos são capazes de influenciar positivamente o desempenho dos animais foram publicados mais de 30 anos atrás. Acidificantes consistindo de ácidos orgânicos e seus sais apresentam uma alternativa promissora. Eles têm recebido atenção como um substituto em potencial, para melhorar o desempenho e a saúde dos animais (LÜCKSTÄDT, 2008). Na aquicultura, os efeitos benéficos dos ácidos chamaram a atenção da comunidade científica, levando a investigação dos efeitos destes ácidos na alimentação de peixes. Vários estudos têm sido realizados com espécies diferentes, como truta arco-íris, salmão-do-Atlântico, tilápia, carpa e camarão.

Uma grande variedade de ácidos orgânicos foi testada na aquicultura como, por exemplo, ácido fórmico, acético, propiônico, butírico, cítrico entre outros (FOEGEDING & BUSTA, 1991). Um dos primeiros estudos sobre o uso de ácidos orgânicos em dietas para peixes foi com salmonídeos (FAUCONNEAU, 1988 apud LÜCKSTÄDT, 2008). Estudos com salmão (*Salvelinus alpinus*) mostraram que peixes alimentados com uma dieta com sais de sódio de ácido láctico a 1% apresentaram aumento no peso de cerca de 630 g em 84 dias, enquanto os

peixes não suplementados chegaram ao peso final de 520 g (GISLASON et al., 1996).

Ramli et al., (2005) testaram ácido orgânico como promotor de crescimento em tilápia na Indonésia. Durante 85 dias os peixes foram alimentados com (0, 0,2, 0,3 e 0,5%) com o diformato de potássio (KDF). Neste estudo foi observado que o consumo de ração, ganho de peso vivo e relação de eficiência protéica melhoraram significativamente com 0,2% de KDF.

Os acidificantes exercem seus efeitos sobre o desempenho nos animais através de dois mecanismos diferentes: no trato gastro-intestinal e sobre o metabolismo (FREITAG, 2007). Em geral, os ácidos orgânicos são capazes de penetrar através da parede celular das bactérias. Uma vez lá dentro, o ácido libera seus prótons ( $H^+$ ) no citoplasma neutro e reduz o pH intracelular. A bactéria redireciona seus esforços em prol do excesso de prótons, assim, esgotando o metabolismo celular e leva a um menor crescimento da célula e até mesmo a morte celular (SCHRYVER et al., 2010) (Figura 03).

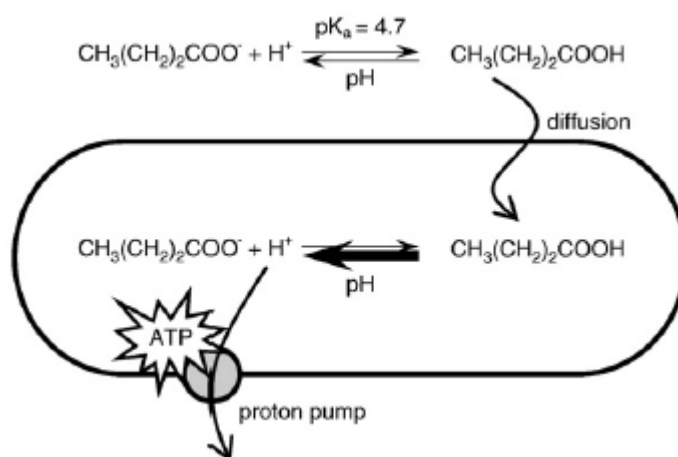


Figura 03. Mecanismo da atividade bacteriostática de ácido orgânico (ácido butírico). Os ácidos passam pela membrana celular em sua forma não dissociada, dissociando no citoplasma. Como consequência, as células têm de gastar energia para exportar o excesso de prótons. Fonte: DEFOIRDT et al., 2009.

Os ácidos orgânicos são, geralmente, absorvidos através do epitélio intestinal por difusão passiva podendo ser usados em várias vias metabólicas para geração de energia, por exemplo, para geração de ATP no ciclo do ácido cítrico (DIEBOLD & EIDELSBURGER, 2006). Os ácidos orgânicos também podem reduzir o pH no estômago, e talvez no intestino delgado, através da

entrada de íons  $H^+$  e inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas através da dissociação dos ácidos e da produção de ânions no interior das células bacterianas (EIDELSBURGER, 1997).

## 2. DESCRIÇÃO DO LABORATÓRIO

O estágio foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha-LAPMAR I da Universidade Federal de Santa Catarina (Figura 04), localizado na Estação de Maricultura – Beco do Coroas, s/nº Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina, no período de junho de 2010 a novembro de 2011.

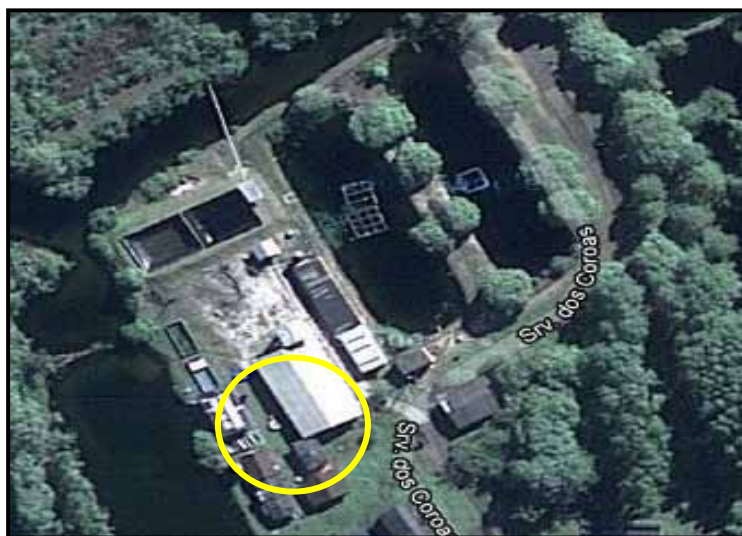


Figura 04. Laboratório de Piscicultura Marinha – LAPMAR - I. Fonte: Google maps.

As atividades no laboratório tiveram início na década de 90, com o intuito de gerar conhecimentos sobre técnicas de reprodução e engorda de espécies nativas da costa catarinense, com o objetivo de desenvolver a piscicultura em nosso litoral com boa aceitação no mercado. Atualmente, as espécies que estão sendo objeto de estudo são: robalo-peva, robalo-flecha, sardinha, carapeba, bijupirá e tainha. A espécie cujo conhecimento encontra-se mais avançado é o robalo-peva, com domínio da tecnologia para reprodução e larvicultura.

O LAPMAR I tem como meta "Produzir e transmitir conhecimento científico e tecnológico no campo da piscicultura marinha, formando pessoal de graduação e de pós-graduação, treinando produtores e interagindo com a iniciativa privada e outras instituições públicas".



### 3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

#### 3.1 CULTIVO DE MICROALGAS

A microalga utilizada no Laboratório de Piscicultura Marinha-LAPMAR I é a *Nannochloropsis oculata*. É produzida para alimentar os rotíferos *Brachionus plicatilis* que serão oferecidos às larvas e também é utilizada nos tanques nos primeiros dias de larvicultura (água verde). A repicagem é feita de três em três dias, um erlenmeyer de 2 L vai ser inoculado para um garrafão de 5 L. Esses, por sua vez, serão inóculos para garrafões de 20 L, que serão inóculos para um tanque de 100 L, depois para um tanque de 200 L e assim sucessivamente (Figura 05).

A produção de microalga é realizada em erlenmeyer, garrafões de água e tanques de fibra de vidro de 500 L, a temperatura da sala é mantida a 19 °C para evitar a proliferação de bactérias. A água do mar passa sempre por um filtro de 5 micrômetros e clorada por uma hora, depois é adicionado o tiosulfato de sódio para eliminar o cloro. Em seguida, é adicionado o meio de cultura composto pela solução principal (nitrato de sódio, fosfato de sódio monobásico e água destilada), a dose utilizada é de 1,0 mL L<sup>-1</sup>, e solução de metais (composta por cloreto férrico e água destilada), dose de 0,04 mL L<sup>-1</sup>.



Figura 05. Produção de microalgas em garrafões de 5, 20 L e tanques de fibra de 500 L.  
Fonte: Scheila Dutra, 2011.

#### 3.2 CULTIVO DE ROTÍFEROS

As espécies de rotíferos utilizado no LAPMAR I são *Brachionus plicatilis* e *Brachionus rotundiformis* (Figura 06). A produção é iniciada em pequenos

volumes (5 L). Os rotíferos são alimentados diariamente com microalga *N. oculata*, sendo que a cada quatro dias é realizada a repicagem desse volume e limpeza dos recipientes. Os rotíferos são filtrados em malha de 60 micrômetros e uma parte é mantido no recipiente de 5 L e outra parte para tanques de 50 L. Após os quatro dias nos tanques de 50 L, ou dependendo da densidade alcançada, os rotíferos são filtrados e divididos para tanques de 600 L para alcançar uma concentração média de 300 rotíferos mL<sup>-1</sup>. Para o crescimento populacional dos rotíferos é fornecida diariamente levedura natural da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico utilizado em panificação).

Esses rotíferos são produzidos para serem utilizados na larvicultura no segundo dia das larvas, a uma concentração inicial de 5 rotíferos mL<sup>-1</sup>, esse fornecimento de rotíferos ocorre até o 20º dia de vida.

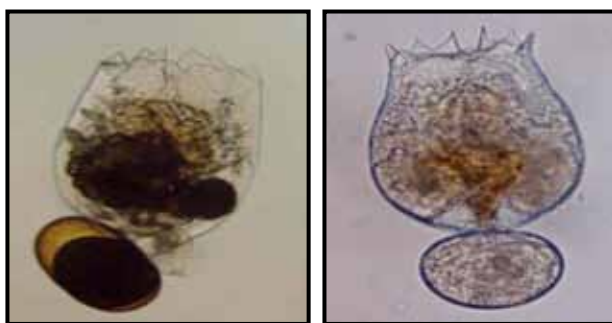


Figura 06. Espécies de rotíferos cultivos no laboratório de Piscicultura Marinha I (*Brachionus plicatilis* e *Brachionus rotundiformis*).

Fonte: [http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/korea/korean\\_aquaculture/zooplanktonic.htm](http://www.lib.noaa.gov/retiredsites/korea/korean_aquaculture/zooplanktonic.htm).

### 3.3 CULTIVO DE ARTEMIA

O manejo da *Artemia salina* vai depender do tipo de cisto, estes podem passar por três processos que são iniciados até 48 horas antes de seu fornecimento às larvas: hidratação, incubação dos cistos e enriquecimento dos náuplios, sendo que alguns tipos de cistos não precisam ser hidratados.

A hidratação tem por objetivo facilitar a incubação, com a retirada da camada mais externa dos cistos que são colocados em um recipiente com água salgada, onde permanecem por uma hora, sob forte aeração.

Os cistos hidratados são transferidos para um tanque de 200 L para eclosão dos náuplios, no qual o volume de água é completado de acordo com a

proporção de 1,5 a 2 g de cistos L-1, onde permanecem por 24 horas, com iluminação e aeração constantes. Após 24 h, faz-se a coleta, desligando-se a aeração e esperando que as cascas dos cistos flutuem e os náuplios sejam induzidos a irem ao fundo do tanque (que deve conter uma “janela” transparente para que a luz incida) através da colocação de uma lâmpada, pois possuem fototaxia positiva.

Coloca-se um filtro de 60 micrômetros na torneira do tanque para reter os náuplios para realizar a contagem dos náuplios (Figura 07). A contagem pode ser realizada colocando-se os náuplios em um recipiente de volume conhecido, por exemplo 10 L, e em uma proveta com água do mar de 250 mL colocam-se cinco amostras de um mL retiradas do volume de 10 L e realizam-se três subamostragens. O total de náuplios será o valor obtido da multiplicação do volume do recipiente conhecido, a média das três subamostras e o fator de diluição.

O enriquecimento pode ser feito com um produto comercial (Selco, da INVE) a uma concentração de 0,5 g L<sup>-1</sup>, por mais 24 horas, ou com microalgas. O fornecimento de náuplios de *Artemia salina* na larvicultura de robalo ocorre do 12º ao 50º dia de vida, sobrepondo-se ao fornecimento dos rotíferos.



Figura 07. Náuplio de *Artemia*.

Fonte: <http://www.crystalred.eu/produto/2316/nauplio-de-artemia-vivo-enriquecido/>.

### 3.4 LARVICULTURA DE ROBALO-PEVA

Os tanques utilizados para recepção dos ovos possuem 5.000 L de água verde (microalgas *N. oculata* em alta concentração). Após a desova os ovos são

colocadas nos tanques numa densidade de 40 a 60 ovos por litro, pois o sistema de larvicultura de robalo-peva no LAPMAR I é intensivo.

Na primeira semana não tem sifonamento nos tanques, pois as larvas são muito frágeis (Figura 08). A partir da segunda ou terceira semana, deve ser realizado a cada dois dias o sifonamento do fundo dos tanques. Para a limpeza das paredes e retirada de óleo, proteína e outras substâncias que se acumulam na superfície da água e, para essa limpeza, utiliza-se skimmer de superfície. A renovação de água no início da larvicultura é pequena devido à baixa carga biológica (10% dia-1) visando à manutenção da água verde nos tanques e por causa da fragilidade das larvas nos seus primeiros dias de vida, aumentando (100% a 300 dia-1), à medida que crescem e se incrementa a alimentação.

A duração da larvicultura do robalo-peva é de 60 dias, devendo, nesse momento, haver uma classificação por tamanho para evitar canibalismo pelas larvas maiores e por causa da competição por alimento. O desmame, processo de transição da alimentação com alimento vivo para o alimento inerte, ocorre entre o 35º e 50º dia, sobrepondo-se ao fornecimento de *Artemia salina*.

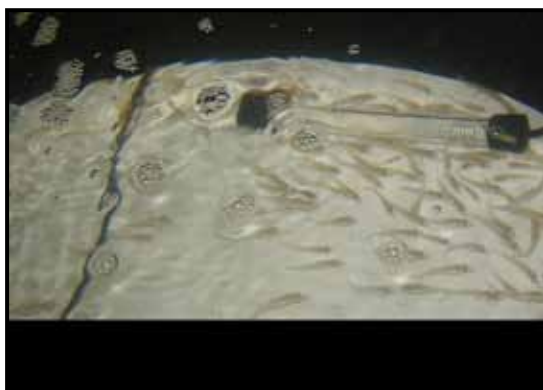


Figura 08. Juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*).  
Fonte: Scheila Dutra, 2011.

#### **4. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO CIENTÍFICO**

Durante o estágio participei de várias atividades no Laboratório de Piscicultura Marinha I. Para a realização do trabalho de conclusão do curso pensei em fazer um trabalho para inovar o cultivo e melhorar a saúde e o desempenho zootécnico de juvenis de robalo-peva.

Portanto, o presente trabalho tem por objetivo mensurar índices zootécnicos e avaliar a microbiota intestinal dos juvenis de robalo-peva suplementados, via ração, com sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio.

## UTILIZAÇÃO DE SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus* POEY, 1860).

### 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a pesca extrativista tem interferido nos ecossistemas marinhos, reduzindo severamente vários estoques de peixes. Uma alternativa para reduzir a atividade pesqueira preservando os estoques naturais de peixes é a piscicultura (WARD & MYERS, 2005; BRANDINI; SILVA; PROENÇA, 2000).

Segundo Benetti (1998) a piscicultura marinha vem tendo progresso na aquicultura e relata que a utilização do robalo em cultivo está em fase de pesquisa. Os robalos do gênero *Centropomus*, apresentam alto valor comercial, destacam-se pela qualidade refinada de sua carne e resistência a adversidades (CERQUEIRA, 2002).

A espécie *C. parallelus* conhecido popularmente como robalo-peva, são peixes marinhos diádromos e eurihalinos que podem ser encontrados nas zonas costeiras, baías, estuários e lagoas salobras, ambientes de água doce e, ocasionalmente, em lagoas hipersalinas (CERVIGÓN et al., 1992). São peixes carnívoros, no ambiente natural se alimentam principalmente de peixes e crustáceos (CERQUEIRA, 2004).

Uma das etapas mais críticas na produção de robalo-peva e de outras espécies marinhas é a larvicultura. Nesse período ocorre grande mortalidade dificultando o fornecimento de juvenis para a engorda em escala comercial (TUCKER, 1987). Durante a primeira semana quando as larvas iniciam a alimentação exógena e na fase do desmame, ou seja, etapa onde ocorre a substituição do alimento vivo por alimento inerte, parte das larvas não se adaptam as mudanças e morrem por desnutrição (CERQUEIRA; MACCHIAVELLO; BRUGGER, 1995; ROCHA et al., 2008). Outra importante perda no cultivo intensivo de peixes marinhos é devida as infecções bacterianas. Estas são consideradas problemas secundários relacionados ao estresse como variação de temperatura, manejo, qualidade de água, parasitas, tratamento quimioterápico, entre outros (AUSTIN & AUSTIN, 2007).

Na aquicultura os antibióticos têm sido tradicionalmente utilizados como tratamento profilático (CABELLO, 2006). O uso freqüente de antibióticos contra bacterioses causou a seleção de cepas bacterianas resistentes a vários antibióticos, (DEFOIRDT et al., 2007). Por isso, há uma grande necessidade de buscar alternativas que ajudem a manter a saúde dos animais.

Os ácidos orgânicos e seus sais apresentam uma alternativa promissora na produção aquícola. Eles têm recebido muita atenção como substituto de antibióticos, para melhorar o desempenho e a saúde dos animais (LÜCKSTÄDT, 2008). Segundo Dibner & Buttin (2002) na produção animal os ácidos orgânicos referem-se aos ácidos fracos de cadeia curta (possuindo um a sete carbonos). São substâncias que contêm uma ou mais carboxilas em sua molécula, incluindo ácidos graxos e aminoácidos (MROZ, 2002).

Estudo feito por Ringø (1992) obteve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) no crescimento para salmão (*Salvelinus alpinus*). A adição de 1% do acetato de sódio promoveu aumento significativo no coeficiente de digestibilidade de proteína e lipídios da dieta, e também para os ácidos graxos 14:0, 16:0, 18:1, 20:1, 22:1 incluindo os ácidos graxos essenciais como os 18:0 e 18:2 (n-6). O estímulo do crescimento evidenciado nos peixes alimentados com acetato pode ser explicado pelo aumento de ingestão de alimento e pelo aumento de digestibilidade de alguns componentes da dieta.

Hossain et al., (2007) utilizaram 1% de ácido cítrico em dietas para pargo vermelho (*Pagrus major*) e obtiveram melhora no ganho de peso, conversão alimentar e retenção de nitrogênio (N) e fósforo (P). Os acidificantes ou ácidos orgânicos exercem seus efeitos sobre o desempenho através de dois mecanismos diferentes nos animais: no metabolismo e no trato gastro-intestinal (FREITAG, 2007).

Os ácidos orgânicos são, geralmente, absorvidos através do epitélio intestinal por difusão passiva podendo ser usados em várias vias metabólicas para geração de energia, por exemplo, para geração de ATP no ciclo do ácido cítrico (DIEBOLD & EIDELSBURGER, 2006). No trato intestinal reduzem o pH no estômago, e no início do duodeno, através da entrada de íons  $H^+$  e inibem o crescimento de bactérias, principalmente as Gram-negativas (EIDELSBURGER, 1997).

Em geral, os ácidos orgânicos são capazes de penetrar através da parede celular das bactérias. Uma vez lá dentro, o ácido libera seus prótons ( $H^+$ ) no citoplasma neutro e reduz o pH intracelular. A bactéria redireciona seus esforços em prol do excesso de prótons, assim, esgotando o metabolismo celular e levando a um menor crescimento da célula e até mesmo a morte (SCHRYVER et al., 2010).

Nas bases de dados bibliográficas consultadas não foi possível encontrar trabalhos referenciando a utilização de ácidos orgânicos como aditivos alimentares em peixes marinhos no Brasil. Este então, constitui o primeiro relato brasileiro sobre a utilização de sais de ácidos orgânicos em peixes marinhos e pode ser o ponto de partida para novos estudos em nutrição na piscicultura.



## 2. OBJETIVOS

### - OBJETIVO GERAL

Avaliar a inclusão de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio, em dietas para juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*).

### - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Mensurar índices zootécnicos (ganho de peso, sobrevivência, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, consumo diário de ração e fator de condição) dos juvenis de robalo-peva suplementados, via dieta, com sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio.

Avaliar a microbiota intestinal dos juvenis utilizando meios de cultura TCBS (específico para vibrionáceas) e Marine Ágar (Meio de cultura para bactérias marinhas heterotróficas totais).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### - MATERIAL BIOLÓGICO

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha I, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil. Os juvenis de robalo-peva, obtidos no LAPMAR-I através de desovas naturais por indução hormonal (CERQUEIRA, 2010), foram cultivados até 69 dias após a eclosão (DAE), com temperatura e salinidade médias de 23°C e 35‰ (trinta e cinco por mil), respectivamente. Foram utilizados 3.000 juvenis de robalo-peva, com peso médio inicial de  $0,57 \pm 0,10$  g e comprimento médio de  $3,65 \pm 0,19$  cm.

#### - DELIAMENTO EXPERIMENTAL

Após a biometria inicial, estes foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques cilíndricos com 50 L de água salgada (35‰). A densidade de estocagem foi de 5 juvenis/ L por tanque (Figura 09). Os juvenis foram aclimatados durante uma semana.

A temperatura da água dos tanques (26°C) foi mantida sob controle através de termostatos e aquecedores. A água foi constantemente aerada e a renovação da água foi de 65% ao dia, com fotoperíodo de 9h luz/15h escuro. Os valores de oxigênio dissolvido foram verificados diariamente e o pH semanalmente por meio de Oxímetro (Alfakit ®) e Kit colorimétrico (Alfakit ®), respectivamente. Os resíduos do fundo dos tanques foram sifonados diariamente.



Figura 09. Tanques povoados com juvenis de robalo-peva. Fonte: Scheila Dutra, 2011.

Foram testadas três dietas: dieta controle, dieta suplementada com acetato de sódio (3%) e dieta suplementada com citrato de sódio (3%). Cada tratamento foi realizado com quatro repetições.

#### - INCORPORAÇÃO DOS SAIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Com base nos trabalhos de Schryver et al., (2010) e Khajepour & Hosseini, (2011), foi utilizado 3% de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio, na dieta dos juvenis de robalo-peva . Os sais foram aspergidos sob os pellets de ração, previamente homogeneizados com óleo de fígado de bacalhau (10 ml por kg de ração), para serem ministrados logo após sua aplicação aos animais (Figura 10). A dieta comercial continha 57% de proteína bruta (INVE AQUACULTURE, U.S.A NRD 0.8/1.2 e NRD 1.2/2.0) (Tabela 1) e era fornecida aos animais até a saciedade, seis vezes ao dia, até o término do experimento que teve duração de 30 dias. O grupo controle também recebeu o óleo sem a adição dos sais de ácidos orgânicos.



Figura 10. Ração INVE com adição de óleo de bacalhau e sais de ácido orgânico.  
Fonte: Scheila Dutra, 2011.

**Tabela 1.** Composição centesimal da dieta comercial (INVE) utilizada no experimento.

Composição centesimal ração comercial INVE	
Proteína Bruta (min)	57%
Fibra Bruta (max)	1%
Extrato Etéreo (min)	14,5%
Matéria Mineral (max)	13%
Umidade (max)	7%
Cálcio	1,7%
Fósforo	1,4%
Total de energia	4551 Kcal/Kg

## - AMOSTRAGENS E ANÁLISES

As biometrias foram realizadas a cada 15 dias com os juvenis anestesiados com benzocaína (50ppm). Um grupo de 15 peixes de cada tanque foram pesados e medidos para avaliar o ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e fator de condição (Figura 11).

Para os cálculos dos parâmetros zootécnicos foram utilizadas as seguintes fórmulas:

- Conversão alimentar:  $C/G$

$C$  = consumo de ração (g)

$G$  = ganho de peso (g) (Peso final – Peso inicial)

- Fator de condição:  $Pt/Ct^3 \times 100$

$Pt$  = peso total (g)

$Ct$  = comprimento total (cm)

- Taxa de crescimento específico:  $[100 \times (\ln^1 - \ln^0)/T]$

$\ln^1$  = peso final (g)

$\ln^0$  = peso inicial (g)

$T$  = tempo (dias)

- Consumo diário de ração:  $C/T$

$C$  = Consumo de ração (g)

$T$  = tempo (dias)

No decorrer de todo o experimento foi feito um acompanhamento diário da sobrevivência dos juvenis (contagem direta dos indivíduos).



Figura 11. Biometria de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus*. Fonte: Scheila Dutra, 2011.

## - ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

No final do experimento foram coletados 10 juvenis aleatoriamente de cada tanque para fazer a análise microbiológica do trato intestinal. Os juvenis foram lavados com álcool 70%, para remover bactérias aderidas à superfície corpórea externa, sem afetar as bactérias internas. Posteriormente, de forma asséptica, foi retirado o trato intestinal dos peixes e macerados no cadinho de porcelana.

Em seguida, foram homogeneizados em solução salina estéril, diluídos serialmente (1:10). Semeados em placa de petri contendo meios de culturas Marine Ágar (seletivo para bactérias marinhas heterotróficas totais) e TCBS (seletivo para vibriónaceas) podendo aparecer como colônias amarelas, fermentadoras da sacarose, ou como colônias verdes, não fermentadoras de sacarose (Figura 12). Após 24h incubadas a 26°C, foram efetuadas as contagens totais de unidades formadoras de colônia.



Figura 12. Meio de cultura TCBS com unidades formadoras de colônia.  
Fonte: Scheila Dutra, 2011.

## - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram avaliados quanto à homocedasticidade pelo teste Bartlett. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando detectada diferença estatística as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Todos os testes possuíram nível de significância de (5%) (ZAR, 1996).

#### 4. RESULTADOS

Durante o período experimental, a água de todos os tanques apresentou a média de pH  $7,6 \pm 0,1$ , oxigênio dissolvido  $4,1 \pm 0,6 \text{ mg L}^{-1}$  e temperatura  $25,85 \pm 0,35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

##### - PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS

Na Tabela 2 e 3, encontram-se os resultados médios dos parâmetros zootécnicos com 15 e 30 dias de experimento, respectivamente.

**Tabela 2.** Médias seguidas do desvio padrão dos parâmetros zootécnicos avaliados referentes à inclusão de 3% de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio, citrato de sódio e tratamento controle, em dietas para juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) após 15 dias.

Parâmetros zootécnicos	Tratamentos		
	Controle	Acetato de sódio	Citrato de sódio
Ganho de peso (g)	$0,42 \pm 0,16$	$0,30 \pm 0,19$	$0,39 \pm 0,15$
Conversão alimentar	$1,04 \pm 0,43$	$1,43 \pm 0,77$	$1,13 \pm 0,24$
Consumo diário de ração (g/dia)	$7,01 \pm 0,38^a$	$5,88 \pm 0,86^b$	$7,37 \pm 1,09^a$
Taxa de crescimento específico (%)	$4,20 \pm 1,71$	$2,93 \pm 1,78$	$3,85 \pm 1,60$
Fator de condição (%)	$1,06 \pm 0,02$	$1,03 \pm 0,05$	$1,04 \pm 0,05$
Sobrevivência (%)	$98,8 \pm 0,96$	100	$98,8 \pm 0,5$

\*As letras diferentes representam diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

**Tabela 3.** Médias seguidas do desvio padrão dos parâmetros zootécnicos avaliados referentes à inclusão de 3% de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio, citrato de sódio e tratamento controle, em dietas para juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) após 30 dias.

Parâmetros zootécnicos	Tratamentos		
	Controle	Acetato de sódio	Citrato de sódio
Ganho de peso (g)	$0,72 \pm 0,29$	$0,98 \pm 0,31$	$0,84 \pm 0,23$
Conversão alimentar	$1,2 \pm 0,44$	$0,89 \pm 0,28$	$1,04 \pm 0,27$
Consumo diário de ração (g/dia)	$7,41 \pm 0,93^b$	$9,37 \pm 1,16^a$	$8,01 \pm 0,27^b$
Taxa de crescimento específico (%)	$3,05 \pm 1,21$	$3,44 \pm 0,93$	$3,29 \pm 0,76$
Fator de condição (%)	$1,02 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,02$
Sobrevivência (%)	$96,4 \pm 3,2$	$99,6 \pm 0,5$	$98,8 \pm 0,5$

\*As letras diferentes representam diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

Avaliando os parâmetros zootécnicos foi possível detectar que, apesar da média do ganho de peso e a conversão alimentar dos juvenis de robalo-peva nos primeiros 15 dias de experimento ser maior no tratamento controle ( $0,42 \pm 0,16$  g/dia) ( $1,04 \pm 0,43$ ) e menor no tratamento com acetato de sódio ( $0,30 \pm 0,19$  g/dia) ( $1,43 \pm 0,77$ ) não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ). No entanto, com 30 dias foi detectada a maior média tanto no ganho de peso como na conversão alimentar no tratamento com acetato de sódio ( $0,98 \pm 0,31$  g/dia) ( $0,89 \pm 0,28$ ). O tratamento controle apresentou menor média com relação a esses parâmetros ( $0,72 \pm 0,29$  g/dia) ( $1,2 \pm 0,44$ ). Porém, esses dados não foram diferentes significativamente 5%.

Em relação ao consumo diário de ração houve diferença significativa ( $P<0,05$ ). Nos primeiros 15 dias os juvenis suplementados com acetato de sódio obtiveram valores inferiores ( $5,88 \pm 0,86$  g/dia) quando comparado ao tratamento controle e citrato de sódio ( $7,01 \pm 0,38$  g/dia e  $7,37 \pm 1,09$  g/dia). Após 30 dias o tratamento com acetato de sódio obteve valores superiores ( $9,37 \pm 1,16$  g/dia) em relação ao tratamento controle e citrato de sódio ( $7,41 \pm 0,93$  g/dia e  $8,01 \pm 0,27$  g/dia).

Nos primeiros 15 dias a média da taxa de crescimento específico dos juvenis de robalo-peva foi maior no tratamento controle ( $4,20 \pm 1,71$  %) e menor no tratamento com acetato de sódio ( $2,93 \pm 1,78$  %). Com 30 dias foi o tratamento com acetato de sódio que obteve maior taxa de crescimento específico ( $3,44 \pm 0,93$  %) e menor com o tratamento controle ( $3,05 \pm 1,21$  %), entretanto não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Não foram encontradas diferenças significativas no fator de condição entre os tratamentos controle, acetato de sódio e citrato de sódio. As médias durante todo o período experimental foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 2 e 3). Em relação a sobrevivência nos primeiros 15 dias não foi observada diferença das médias entre os tratamentos (Tabela 2). Com 30 dias o tratamento com acetato de sódio obteve maior sobrevivência ( $99,6 \pm 0,5$  %) em relação aos demais tratamentos, porém não foi encontrada diferença significativa.

## - ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

**Tabela 4.** Concentrações microbiológicas de amostras do trato intestinal de juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) suplementados, via dieta, com 3% de sais de ácidos orgânicos, citrato de sódio, acetato de sódio e tratamento controle após 30 dias de experimento.

TRATAMENTOS	DIFERENTES MEIOS DE CULTURA		
	Marine Ágar (log UFC/g)	TCBS Col. amarela (log UFC/g)	TCBS Col. verde (log UFC/g)
Citrato de sódio	5,84 ± 0,29 <sup>b</sup>	3,46 ± 0,31	4,23 ± 0,49 <sup>a</sup>
Acetato de sódio	5,49 ± 0,09 <sup>b</sup>	4,41 ± 0,49	2,61 ± 0,08 <sup>b</sup>
Controle	7,73 ± 0,88 <sup>a</sup>	4,83 ± 0,62	5,72 ± 0,27 <sup>a</sup>

\*As letras diferentes representam diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

Avaliando as concentrações das contagens totais de unidades formadoras de colônia nos meios de cultura após os 30 dias de experimento foi possível detectar que, os tratamentos com citrato de sódio e acetato de sódio obtiveram uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) na concentração total de bactérias heterotróficas no meio de cultura Marine Ágar ( $5,84 \pm 0,29$  log UFC/g) ( $5,49 \pm 0,09$  log UFC/g) em relação ao tratamento controle ( $7,73 \pm 0,88$  log UFC/g) (Tabela 4).

As contagens de vibrionáceas totais em TCBS não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos citrato de sódio, acetato de sódio e controle ( $3,46 \pm 0,31$  log UFC/g) ( $4,41 \pm 0,49$  log UFC/g) ( $4,83 \pm 0,62$  log UFC/g) para colônias amarelas (sacarose positiva). Já a concentração total de unidades formadoras de colônias verdes (sacarose negativa) no mesmo meio de cultura sofreu redução ( $P < 0,05$ ) no tratamento com acetato de sódio ( $2,61 \pm 0,08$  log UFC/g) em relação ao tratamento com citrato de sódio e controle ( $4,23 \pm 0,49$  log UFC/g) ( $5,72 \pm 0,27$  log UFC/g).



## 5. DISCUSSÕES

De acordo com Cerqueira (2010), a qualidade de água manteve-se adequada ao longo de todo o experimento, estando todos os parâmetros avaliados dentro dos níveis aceitáveis para o cultivo de robalo-peva.

Os resultados obtidos neste trabalho em relação aos parâmetros zootécnicos indicaram influência da utilização dos sais de ácidos orgânicos após 30 dias de tratamento, porém não obtendo diferenças estatisticamente comprovadas entre eles, com exceção do consumo diário de ração. Resultados semelhantes foram observados por Barbosa et al., (2011), que trabalhou com juvenis de robalo-peva com aproximadamente  $54.2 \pm 13.4$  g cada, adicionando bactérias probióticas à dietas experimentais, e não encontram diferenças no desempenho zootécnico. No entanto os mesmos autores verificaram os benefícios da adição de bactérias ácido lácticas nas alterações do aumento de índices hematológicos relacionados às células de defesa como os trombócitos, leucócitos, linfócitos e células hepatossomáticas.

As bactérias ácido lácticas possuem diversos mecanismos de atuação nos organismos aquáticos e dentre eles está a liberação e produção de ácidos orgânicos e em particular está o ácido acético e o ácido láctico, responsáveis pela inibição de bactérias patogênicas Gram negativas no trato intestinal dos peixes. (MAKRAS, L. & VUYST, L., 2006).

Com a avaliação microbiológica efetuada no presente trabalho, foi possível averiguar que houve alteração na microbiota nos tratamentos com os sais de ácidos orgânicos, ocorrendo diminuição nas concentrações das bactérias marinhas heterotróficas totais e mudança na presença de bactérias tipo vibriáceas dentro do trato intestinal, mesmo não sendo efetuados os testes de identificação fenotípica nem molecular. Nhan et al., (2010) obtiveram resultados semelhantes com a utilização de Poli-β-hidroxi butirato (PHB) via *artemia*, melhorando a sobrevivência e desenvolvimento larval, e diminuindo a contagem de bactérias totais e de *Vibrio* sp nas larvas de camarão (*Macrobrachium rosenbergii*). Schryver et al., (2010) também utilizaram o mesmo ácido orgânico em robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) e obtiveram melhora no ganho de peso,

conversão alimentar, diminuindo também o pH intestinal e alterando a comunidade do trato intestinal.

As concentrações microbianas obtidas no experimento tanto no grupo controle como nos animais tratados com os ácidos orgânicos estão corroborando o trabalho de Blain et al., (1998) onde foi avaliado a microbiota existentes em larvas e juvenis da espécie robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) em laboratório utilizando os meios de cultura seletivos e para heterotróficas totais, atingindo as concentrações de  $10^4$  a  $10^6$  UFC/g no intestino para o grupos das vibriónáceas e bactérias totais.

Em revisão feita por Hansen & Olafsen (1999) é relatado que os *Vibrios* em animais marinhos são prontamente isolados e dominantes em proporção da microbiota que cresce em meios de cultura seletivos. Os grandes grupos de vibriões que predominam nos intestinos dos peixes marinhos são: *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. pelagius*, *V. scophthalmi*, *V. splendidus* e *V. parahaemolyticus*.

Maugeri et al., (2000) determinaram em seu estudo que existem espécies fermentadoras de sacarose: *V. metschnikovii*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. hollisae*, *V. damsela* e *V. vulnificus*; e as que não são fermentadoras de sacarose: *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* e *V. furnissii*. Segundo Harris et al., (1996) a utilização da sacarose por *V. harveyi* é variável, ela pode fermentar ou não esta substância, sendo encontrada colônias com manchas verdes e amarelas ao mesmo tempo em Ágar TCBS.

Das espécies acima citadas o *Vibrio alginolyticus*, é freqüentemente envolvido em surtos epizooticos de doenças em dourada (*Sparus aurata*), causando mortalidades massivas e perdas econômicas. Os principais sintomas associados aos surtos são: septicemia, hemorragia, pele enegrecida, úlceras na pele, tendo internamente sintomas como acúmulo de líquido na cavidade peritoneal e petéquias hemorrágicas no fígado (COLORNI; PAPERNA; GORDIN, 1981; BALEBONA et al., 1998).

Outro ponto de interesse observado neste trabalho foi a diferença no consumo diário de ração dos animais aos 15 dias em relação aos 30 dias, pois aparentemente os peixes ainda estavam se adaptando à dieta com acetato de sódio. Após essa adaptação os juvenis aumentaram o consumo e melhoraram seus desempenhos em relação aos demais tratamentos, por talvez, alterar a

atratividade da dieta. Xie; Zhang; Wang (2003) observaram efeitos atrativos para tilápias (*Tilapia nilotica*) alimentadas com dietas suplementadas com ácido cítrico e láctico, enquanto o ácido acético e metacetônico tiveram efeitos repulsivos.

Em virtude dos resultados e das discussões geradas pela forma de incorporação dos ácidos escolhidos, devemos enfatizar que em trabalhos futuros seria interessante avaliar a escolha de diferentes ácidos como o ácido butírico, láctico, e outros. Visando assim, ensaios *in vitro* na inibição de patógenos e até *in vivo*, visando ensaios de alteração de microbiota, atratividade e até digestibilidade de ingredientes.

Novos métodos de incorporação devem ser estudados a fim de proteger estes ácidos da lixiviação na água e até mesmo em partes do trato intestinal aonde os efeitos esperados dos ácidos poderiam ser aumentados, nestes ensaios poderíamos aproveitar para fazer avaliações minuciosas de como eles podem influenciar a saúde intestinal visando protocolos de coleta de amostras para histologia e microscopia eletrônica.

Nesse trabalho os animais foram submetidos durante 30 dias ao tratamento, e talvez por mais tempo de uso dos aditivos poderíamos obter resultados mais diferenciados. Lembrando também que, em outras condições de experimento aonde os animais possam ser desafiados os resultados poderiam ser diferentes.

## 6. CONCLUSÃO ARTIGO CIENTÍFICO

Neste trabalho foi possível avaliar a inclusão de sais de ácidos orgânicos, acetato de sódio e citrato de sódio, em dietas para juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Apesar dos índices zootécnicos (ganho de peso, sobrevivência, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e fator de condição) não apresentarem diferença estatística, foi possível obter diferenças significativas no consumo diário de ração e na microbiota existente dentro do trato intestinal.

## **7. CONCLUSÃO GERAL**

O estágio supervisionado II foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR-I) da Universidade Federal de Santa Catarina e atendeu as minhas expectativas para a conclusão do curso de Engenharia de Aquicultura. Durante o período de estágio foi possível vivenciar a rotina de um laboratório, assim como, perceber o importante papel que a piscicultura marinha pode desempenhar na aquicultura, seja na reprodução de peixes ou no desenvolvimento de tecnologia para aprimorar a atividade.

A estrutura física do laboratório associada à equipe formada permitiu um aprendizado intenso, diversificado e de qualidade. As diversas atividades desenvolvidas durante o estágio possibilitaram o uso na prática do conhecimento teórico adquirido em sala de aula, assim como, o convívio com profissionais da área de produção e pesquisadores, permitiu uma visão mais abrangente da realidade que envolve o engenheiro de aquicultura.

## 8. REFERÊNCIAS GERAL

AUSTIN, B. & AUSTIN, D. **Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish**, 4a ed. Chichester, UK, Springer. p.594, 2007.

AQUAMAPS. **Distribution: Western Atlantic: southern Florida (USA) and the Mexican Gulf coast to Florianopolis, Brazil**. Disponível em: <http://www.aquamaps.org/receive.php>. Acessado em: 26 ago. 2011.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environ Microbiol**, v.8 p. 1137-1144, 2006.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de peixes marinhos. In: POLI, C. R; POLI, A. T. B; ANDREATTA, E; BELTRAME, E (Orgs). **AQUICULTURA - Experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora LTDA, p. 369-406, 2004.

CERQUEIRA, V.R. **Cultivo do Robalo**: aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Florianópolis: UFSC-Ed. Do autor, 2002.

CERQUEIRA, V.R. **Cultivo do robalo-peva (*Centropomus parallelus*)**. In: BALDISSEROTTO, B; GOMES, L.C. (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª Edição Revista e Ampliada. Santa Maria: UFSM; p. 489-520, 2010.

CERQUEIRA, V.R.; MACCHIAVELLO, J.A.G.; BRUGGER, A.M. Produção de alevinos de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860, através da larvicultura intensiva em laboratório. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1992, Peruíbe (SP); ENCONTRO NACIONAL DE AQUICULTURA, **Anais...** São Paulo: ACIESP, p.191-197, 1995.

CERQUEIRA, V.R. & TSUZUKI, M.Y. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. **Fish Physiol Biochem**, v. 35, p.17-28, 2009.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L; HENDRICK, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ, B. **Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca**. Guía De Campo De Las Especies Comerciales Marinas Y De Aguas Salobres De La Costa Septentrional De Sur América. FAO, Rome, Italy, 1992.

DAVID, G. S. Marimba e Pargo Rosa: peixes brasileiros no rumo da maricultura. **Panorama da Aquicultura**, v. 12, n.73, p. 41-44, 2002.

DEFOIRDT, T.; BOON, N.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W.; BOSSIER, P. Short-chain fatty acids and poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. **Biotechnology Advances**, v.27, p. 680-685, 2009.

DEFOIRDT, T.; HALET, D.; VERVAEREN, H.; BOON, N.; WIELE, T. V.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The bacterial storage compound poly-b-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Environmental Microbiology**, v. 9, n.2, p.445-452, 2007.

DIEBOLD, G.; EIDELSBURGER, U. Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. In: Barug D, de Jong J, Kies AK, Verstegen MWS, editors. **Antimicrobial Growth Promoters**. 1st ed. Wageningen Academic Publishers; Wageningen, The Netherlands: p. 311-27, 2006.

EIDELSBURGER, U. Optimierung der Futterqualität ist nur ein Teilaspekt. **Schweinewelt**, January: p.18–21, 1997.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**, Roma: SOFIA, p.40, 2010.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **State of world fisheries and aquaculture** 2006. Rome: FAO. 2008.

FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, A. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. **Museu de Zoologia/USP**, São Paulo. p.116, 2000.

FIGUEIREDO, J.L. & MENEZES, A. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. v. Teleostei (4). **Museu de Zoologia/USP**, São Paulo. p.105, 1985.

FOEGEDING, P.M. & BUSTA, F.F. Chemical food preservatives. In: Block SS, editor. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 1st ed. Lea and Febiger; Philadelphia, PA; p. 802–832, 1991.

FREITAG, M. Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Luckstadt C, editor. Acidifiers in Animal Nutrition – **A Guide for Feed Preservation and Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources Acidification to Promote Animal Performance**. 1st ed.: Nottingham University Press, Nottingham, UK; p.1–11, 2007.

GISLASON, G.; OLSEN, R.E.; RINGØ, E. Comparative effects of dietary Na<sup>+</sup>-lactate on Arctic char, *Salvelinus alpinus* L., and Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Aquaculture Research**, v.27, p.429–35, 1996.

LÜCKSTÄDT, C. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, **Nutrition and Natural Resources** v.3, p. 1-8, 2008.

LUZ, R.K.; SALARO, A.L.; SOUTO, E.F.; REIS, A.; SAKABE, R. Desenvolvimento de alevinos de trairão alimentados com dietas artificiais em tanques de cultivo. **Rev. bras. zootec**, v.30, n.4, p.1159-1163, 2001.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura - Brasil 2008/2009**. Brasil, p.13-14, 2011.

OSTRENSKY, A. & BOEGER, W. A. Principais problemas enfrentados atualmente pela aquicultura brasileira. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: SEAP, p.135-158, 2008.

RAMLI, N.; HEINDL, U.; SUNANTO, S. Effect of potassium-diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract CD-Rom **World Aquaculture Society**, Bali, Indonésia; p.9-13, 2005.

RIVAS, L. R. Sistematic Review of the Perciform fishes of the genus *Centropomus*. **American Society of Ichthyologist and Herpetologist**. Copeia, v.3, p. 579-611, 1986.

ROCHA, A.F.; CARVALHO, C.V.A.; SAMPAIO, L.A. Produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeito da duração do período de co-alimentação durante o desmame. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p. 2334-2338, 2008.

SANCHES, E.G.; PANNUTI, C.V.; SEBASTIANI, E.F. A piscicultura marinha como opção para a carcinicultura brasileira. **Aqüicultura & Pesca**, n.36, novembro/dezembro, p.12-19, 2008.

SCHRYVER, P.; SINHA, A. K.; KUNWAR, P. S.; BARUAH, K.; VERSTRAETE, W.; BOON, N.; BOECK, G.; BOSSIER, P. Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.86, p.1535–1541, 2010.

TONINI, W. C. T.; BRAGA, L. G. T.; VILA NOVA, D. L. D. DIETA DE JUVENIS DO ROBALO *Centropomus parallelus* POEY, 1860 NO SUL DA BAHIA, BRASIL. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.33, p.85-91, 2007.



## 9. REFERÊNCIAS ARTIGO CIENTÍFICO

AUSTIN, B. & AUSTIN, D. **Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish**, 4a ed. Chichester, UK, Springer. p.594, 2007.

BALEBONA, M.C.; ANDREU, M.J.; BORDAS, M.A.; ZORRILLA, I.; MORIÑIGO, M.A.; BORREGO, J.J. Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* for Cultured Gilt-Head Sea Bream (*Sparus aurata*). **Appl Environ Microbiol**, v.64, n.11, p.4269–4275, 1998.

BARBOSA, M.C.; JATOBÁ, A.; VIEIRA, F.N.; CORREA, B.S.; MOURINO, J.L.P.; ANDREATTA, E.R.; SEIFFERT, W.Q.; CERQUEIRA, V.R. Cultivation of Juvenile Fat Snook (*Centropomus parallelus* Poey, 1860) Fed Probiotic in Laboratory Conditions. **Brazilian archives of biology and technology**. AN INTERNATIONAL JOURNAL, V.54, n.4, p.795-801, 2011.

BENETTI, D.D. Recent Progress in Marine Fish Aquaculture. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABRAq, v.1, p.183-195, 1998.

BLAIN, S.K.; TUCKER, JR.; JOHN, W.; NEIDIG, C.L.; VERMEER, G.K.; COOPER, V.R.; JARRELL, J.L.; SENNETT, D.G. Bacterial management strategies for stock enhancement of warmwater marine fish: a case study with common snook (*Centropomus undecimalis*). **BULLETIN OF MARINE SCIENCE**, v. 62, n.2, p.573-588, 1998.

BRANDINI, F.P.; SILVA, A.S.; PROENÇA, L.A.O. Oceanografia e Maricultura. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, p.73-106, 2000.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. **Environ Microbiol**, v.8, p.1137-1144, 2006.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de peixes marinhos. In: POLI, C. R; POLI, A. T. B; ANDREATTA, E; BELTRAME, E (Orgs). **AQUICULTURA - Experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora LTDA, p.369-406, 2004.

CERQUEIRA, V.R. **Cultivo do Robalo: aspectos da reprodução, larvicultura e engorda**. Florianópolis: UFSC-Ed. Do autor, 2002.

CERQUEIRA, V.R. **Cultivo do robalo-peva (*Centropomus parallelus*)**. In: BALDISSEOTTO, B; GOMES, L.C. (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª Edição Revista e Ampliada. Santa Maria: UFSM, p.489-520, 2010.

CERQUEIRA, V.R.; MACCHIAVELLO, J.A.G.; BRUGGER, A.M. Produção de alevinos de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860, através da larvicultura intensiva em laboratório. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1992, Peruíbe (SP); ENCONTRO NACIONAL DE AQUICULTURA, **Anais...** São Paulo: ACIESP, p.191-197, 1995.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICK, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ, B. **Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca**. Guía De Campo De Las Especies Comerciales Marinas Y De Aguas Salobres De La Costa Septentrional De Sur América. FAO, Rome, Italy, 1992.

COLORNI, A.; PAPERNA, I.; GORDIN, H. Bacterial infections in gilt-head sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. **Aquaculture**, v.23, p.257–267, 1981.

DEFOIRDT, T.; HALET, D.; VERVAEREN, H.; BOON, N.; WIELE, T.V.; SORGELOOS, P.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. The bacterial storage compound poly-b-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. **Environmental Microbiology**, v. 9, n.2, p.445–452, 2007.

DIBNER, J.J. & BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **J. Appl. Poult. Res.** v.11, p.453–463, 2002.

DIEBOLD, G. & EIDELSBURGER, U. Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. In: Barug D, de Jong J, Kies AK, Verstegen MWS, editors. **Antimicrobial Growth Promoters. 1st ed. Wageningen Academic Publishers**; Wageningen, The Netherlands: p. 311–27, 2006.

EIDELSBURGER, U. Optimierung der Futterqualität ist nur ein Teilaspekt. **Schweinewelt**, January: p.18–21, 1997.

FREITAG, M. Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Luckstadt C, editor. Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed Preservation and Perspectives in Agriculture, **Veterinary Science**, Nutrition and Natural Resources Acidification to Promote Animal Performance. 1st ed.: Nottingham University Press, Nottingham, UK; p.1–11, 2007.

HANSEN, G.H & OLAFSEN, J.A. Bacterial Interactions in Early Life Stages of Marine Cold Water Fish. **Microbial ecology**, v. 38, p.1-26, 1999.

HARRIS, L.; OWENS, L.; SMITH, S. A Selective and Differential Medium for *Vibrio harveyi*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.62, p.3548-3550, 1996.

HOSSAIN, M.A.; PANDEY, A.; SATOH, S. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. **Fisheries Science**, v. 73, p.1309 – 1317, 2007.

KHAJEPOUR, F. & HOSSEINI, S.A. Calcium and phosphorus status in juvenile Beluga (*Huso huso*) fed citric acid-supplemented diets. **Aquaculture Research**, 2011 in press.

LÜCKSTÄDT, C. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, **Nutrition and Natural Resources** v.3, p. 1-8, 2008.

MAKRAS, L. & VUYST, L. The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids. **International Dairy Journal**, v.16, p.1049-1057, 2006.

MAUGERI, T.M.; CACCAMO, D.; GUGLIANDOLO, C. Potentially pathogenic vibrios in brackish waters and mussels. **J. Appl. Microbiol**, v. 89, p.261-266, 2000.

MROZ, Z. Acidifiers fytases and their interections in feeding of pigs and poultry. Thecnical meeting on additives and new feed technologies. **Effects of their interections and specifications of use**. Madrid, p.1-51, 2002.

NHAN, T.D.; WILLE, M.; SCHRYVER, P.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; SORGELOOS, P. The effect of poly  $\beta$ -hydroxybutyrate on larviculture of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, v. 302, p.76 – 81, 2010.

RINGØ. Effects of dietary formate and acetate on growth and lipid digestibility in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). Fiskeridirektoratets Skrifter Serie Ernæring, v.5, p.17–24, 1992.

ROCHA, A.F.; CARVALHO, C.V.A.; SAMPAIO, L.A. Produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeito da duração do período de co-alimentação durante o desmame. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38 n.8, p.2334-2338, 2008.

SCHRYVER, P.; SINHA, A.K.; KUNWAR, P.S.; BARUAH, K.; VERSTRAETE, W.; BOON, N.; BOECK, G.; BOSSIER, P. Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.86, p.1535–1541, 2010.

TUCKER, J.W. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. **The Progressive Fish- Culturist**, Bethesda, v.49, p.49-57, 1987.

WARD, P. & MYERS, R. A. Shifts in open-ocean fish communities coinciding with the commencement of commercial fishing. **Ecology**, New York, v.4, n.86, p.835-847, 2005.

XIE, B.S.; ZHANG, L.; WANG, D. Effects of several organic acids on the feeding behavior of *Tilapia nilotica*. **Journal Applied Ichthyology**, v.19, p.255 – 257, 2003.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**, Upper Saddle River, NJ. 1996.